مكافحة حشرة من الخوخ الأخضر (Aphididae: Homoptera) Myzus persica(sulzer) باستخدام الفطرين *Beauveria bassiana, Cladosporium oxysporum*

صفاء محمد ياسين

قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة ميسان ، ميسان ، العراق

الملخص

هدفت هذه الدراسة دراسة تأثير الفطريات الأحيائية الشائعة على الحشرات واستخدام الفطريات الإحيائية في مكافحة الحشرات وأوضحت النتائج بان لنسبة الأمراضية الفطران *B. bassiana* و *C. oxysporum* على قدرة أمراضية لحشرة من الخوخ الأخضر في حين حقق المعلق البوغي لهما في الحقل بالتركيز 1×10^{8} بوغ / مل نسبة هلاك بلغت 39.02 و35.68 % للفطرين على التوالي.

أما عن تأثير العوامل البيئية على الفطريات فقد وجد أن درجة الحرارة 25 م° هي أكثر الدرجات ملائمة لنمو الفطر *B. bassiana* بينما كانت أفضل درجة ملائمة لنمو الفطر *C. oxysporum* هي 25 و 30 م° وأن أفضل رقم هيدروجيني ملائم لنمو الفطر *B. bassiana* على الوسط ألزرعي .P.D.A هو 8 و9 أما أفضل رقم هيدروجيني ملائم لنمو الفطر *C. oxysporum* هو 6 و7 ، كما أظهر التركيز 100 % من راشح الفطر *B. bassiana* تأثيرا عالياً في حوريات وكاملات الحشرة إذ بلغت نسبة الهلاك52.17 و 54.10 % على التوالي أما راشح الفطر *C. oxysporum* فقد حقق نسبة هلاك بلغت55.5 و 50.6 % في حوريات وكاملات الحشرة على التوالي. فضلاً عن ذلك فأن نسب الكلوروفيل و الكاروتين اختلفت معنوياً عن معاملة المقارنة .

المقدمة

لقد بدأ صراع الإنسان ضد الآفات منذ مدة طويلة من الزمن وقبل ظهور الحضارة وما يزال ذلك الصراع قائما حتى يومنا هذا وسوف يستمر بلا شك مستقبلا لان كلاهما يريد الأشياء نفسها التي يريدها الآخر ، وان اعتقد الإنسان بأنه سيد الطبيعة فانه غالبا ما يتناسى أسبقية الحشرات في السيادة وامتلاك الطبيعة قبل ظهور البشرية على الأرض بقرون عديدة. ومن بين هذه الحشرات من الخوخ الأخضر (Homoptera : Aphididae) *Myzus persica* (sulzer) التي تعد من الآفات الحشرية المهمة التي لها مدى عائلي واسع يتجاوز الـ 400 عائل نباتي في العالم ، وهي تسبب إضراراً مباشرة وذلك بتغذيتها وامتصاصها للعصارة النباتية ، فضلاً عن دورها الكبير في نقل العديد من الفايروسات المهمة اقتصادياً ، إذ تقوم حشرات هذا النوع بمفردها بنقل أكثر من 70 نوعاً من الفايروسات النباتية ، كما تعمل هذه الحشرة على إعاقة عمليتي التنفس والنتح و خفض عملية التركيب الضوئي في الأوراق بصورة غير مباشرة من خلال امتصاص العصارة النباتيةوا ,فراز الندوة العسلية وهذه تساعد على تجميع الأتربة عليها والتي تلتصق بها أنواع من الفطريات الممرضة على النبات. وكذلك يزيد من أضرار حشرات المن بشكل عام أنها تعيش على النبات بشكل مستعمرات تضم كل أدوار الحشرة وتتكاثر عذرياً معظم أيام السنة ، وكذلك قصر دورة حياتها وتعدد أجيالها التي قد تصل إلى 20جيلاً في المنطقة الوسطى من العراق سنوياً . لقد أدى الاستعمال المتزايد والعشوائي للمبيدات منذ ثلاثينات القرن الماضي إلى حدوث مشاكل بيئية وبما إنحشرة من الخوخ الأخضر قد وصلت إلى مرتبة الآفة الرئيسة على عدد من المحاصيل الزراعية وبخاصة نباتات العائلة الباذنجانية فقد صار الاتجاه إلى اعتماد أسلوب التكامل في مكافحتها ضمن ظروف الزراعة المحمية والحقل المكشوف في العراق مما دعا الباحثين إلى التفكير بمفهوم آخر للمكافحة يدعى بإدارة الآفات المتكاملة (IPM) والذي يهدف إلى استعمال أفضل طرق المكافحة معا لخفض أعداد الآفة إلى مستوى اقل من الحد الاقتصادي الحرج ، والسلبيات المرافقة لاستخدام هذه المواد الكيمائية لذلك أتجه الباحثون للتفتيش عن طرائق أخرى أكثر أماناً للبيئة ، لهذا اتجه الباحثين الى استعمال الأحياء المجهرية ومنها الفطريات لمقاومة الآفات الحشرية في علم أمراض اللافقاريات ، إذ تم تسجيل أكثر من 700 نوع من الفطريات المتواجدة مع الحشرات ولكن فقط 10 منها طورت لمقاومة الحشرات ذات الأهمية الاقتصادية، كحشرات حرشفية ونصفية ومتشابهة الأجنحة [1]

أجريت العديد من الدراسات في العالم حول استعمال الفطريات لمقاومة حشرة المن وتحديد فعاليتها سواءعزلةٌ من حشرات المن أم من غيرها [2] أما في العراق فقد تم استعمال الفطريات في مكافحة الحشرات ومنها تم استخدام الفطر *Beauveria bassiana* المعزول من يرقات حفار ساق النخيل ذي القرون الطويلة لمقاومة حشرة من الخوخ الأخضر *Myzus persicae* [9] .

إن قلة الدراسات في القطر حول عزل الفطريات المرافقة لحشرة المن وتقويم فعاليتها الممرضة ضدها وتوفير عامل جيد في المقاومة الجرثومية يمكن استغلاله عند ثبوت فعاليته. أُجريت هذه الدراسة والتي هدفت إلى

1. عزل وتشخيص الفطريات المرافقة لبعض أجناس وأنواع حشرة المن .
2. اختبارات القدرة الأمراضية للفطريات وروا شح الفطريات المعزولة على حشرة من الخوخ الأخضر *Myzus persica* (sulzer)

3. دراسة بعض العوامل البيئية المؤثرة على حيوية الفطريات الممرضة

المواد وطرائق العمل Materials & Methods

أجريت جميع التجارب المختبريه في مختبر الحشرات في قسم علوم الحياة – كلية العلوم– جامعة ميسان– ومن الفترة **26\11\2011** إلى **1\3\2012**

عزل الفطريات المرافقة لحشرة منّ الخوخ الأخضر وتشخيصها

جلبت مجموعة من حشرات المنّ الموجودة على نبات الفجل مزروعة في محافظة ميسان والتي شوهدت عليها علامات الإصابة ، غسلت جيداً بالماء المقطر المعقم ثم عقمت سطحياً بمادة هايبوكلورات الصوديوم (NaOCl) بنسبة 10 % من المحلول التجاري لمدة دقيقتين ثم نقلت إلى ماء مقطر معقم لمدة دقيقتين بعدها نقلت إلى ورق ترشيح نوع Whatman No.1 لإزالة الماء منها . وضعت سبع حشرات كل طبق زجاجي حاوية على الوسط الغذائي PDA وبشكل دائري على بعد 1 سم عن المحيط ، وحضنت الأطباق تحت درجة حرارة 25 ± 2 م° لمدة 3– 4 أيام وعزلت الفطريات النامية ونقيت وحضنت على أوساط صلبة مائلة وشخصت بالاعتماد على المفاتيح التصنيفية المتوفرة [17],[16],[15]

اختبار القدرة الأمراضية للفطريات المعزولة من حشرة منّ الخوخ الأخضر

تحضير المعلق البوغي

من بين الفطريات المعزولة تم اختيار الفطرين *Beauveria bassiana* و *Cladosporium oxysporum* لأمراضيتهما العالية للحشرة ، حضر العالق البوغي للفطرين بأخذ قرص قطره 0.5 سم من مستعمرة الفطرين النامية على الوسط الزرعي PDA بعمر أسبوع ، وضع القرص في 9.5 مل ماء مقطر معقم ورج لمدة خمس دقائق لإزالة الأبواغ عن حواملها البوغية وحضرت التراكيز 1×10^{6} و 1×10^{7} و 1×10^{8} بوغ / مل باستخدام شريحة العد(Haemocytometer)

دراسة تأثير الفطرياتفي حوريات وبالغات حشرة منّ الخوخ الأخضر

حضرت أوراق سليمة من نبات الفجل وقطعت إلى قطع مساحة كل منها 2 سم^2 تقريباً ، ووضع عليها فردواحد لكل من الحوريات والبالغات على حدة ووضعت الأوراق في أطباق بلاستكية قطرها 9 سم ووضعت فيها قطعة من القطن مبللة لضمان الحصول على رطوبة دائمية ، ثم عوملت المعاملات بالمعلق البوغي للفطريات ، حيث أضيف 1 مل لكل حشرة كاملة وحورية وبالتراكيز المذكورة في الفقرة السابقة ، أما معاملة المقارنة فتم رشها بماء مقطر معقم ، وتم حضنها بدرجة حرارة 25 ± 2 ،وتم حساب أعداد الأفراد الحية المتبقية بعد 24 و 48 و 72 ساعة من الرش[3] بعدها أعيد عزل الفطريات من الحشرات المعاملة والتي ظهرت عليها أعراض الإصابة للتأكد من أمراضية هذه الفطريات وحسبت النسبة المئوية للهلاك وصححت حسب معادلة Orell و Schneider الواردة في [10]

$$\text{النسبة المئوية للقتل \%} = \frac{\text{نسبة الموت في المعاملة} - \text{نسبة الموت في المقارنة}}{100 - \text{نسبة الموت في المقارنة}} \times 100$$

تأثير العوامل البيئية في نمو الفطرين *B.bassiana* و *C.oxysporum*

أولاً : تأثير درجات الحرارة

حضر ت أطباق زجاجية حاوية على الوسط الغذائي PDA مضاف إليه المضاد الحيوي Chloramphenicol بمعدل 250 ملغم/لتر ، لقح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم من كل منمستعمر ات الفطرين *B.bassiana* و *C.oxysporum* الناميتين على الوسط ألزرعي PDA وبعمر أسبوعوكلاً على حدة ، ثم حضنت الأطباق في درجات حرارة (10 ، 15 ، 20 ، 25 ، 30 ، 35) م° ، وبواقع ثلاثة مكررات لكل درجة حرارة ولكل فطر، وتم حساب النمو الشعاعي للفطر ين المختبرين بأخذ معدل قطرين متعامدين بعد خمسة أيام من الحضن .

تأثير الرقم الهيدروجيني

حضر الوسط الغذائي PDA المعقم والمضاف إليه المضاد الحيوي Chloramphenicol بمعدل 250 ملغم / لتر ثم عدل الرقم الهيدروجيني إلى المستويات 4 ، 5 ، 6 ، 7 ، 8 ، 9 باستعمال (1) عياري من القاعدة NaOH والحامض HCl تركيز 2% بواسطة جهاز pH meter ، ثم صب الوسط في أطباق زجاجية معقمة ، لقح مركز كل طبق بقرص قطره 0.5 سم من مستعمرتي الفطرين *B. bassiana* و *C.oxysporum* ، وحضنت الأطباق تحت درجة حرارة 25 ±2 م° وبواقع ثلاثة مكررات لكل رقم هيدروجيني ولكل فطر ، وتم قياس النمو الشعاعي كما في الفقرة أعلاه .

دراسة تأثير راشح الفطرين في حوريات وبالغات حشرة منّ الخوخ الأخضر

وزع الوسط الغذائي السائل PDB (Potato Dextrose Broth) في دوارق زجاجية حجم 250 مل بمعدل 150 مل/ دورق مضاف إليها المضاد الحيوي Chloramphenicol بمعدل 250 ملغم/ لتر ، لقح كل دورق بعدة 5 أقراص بقطر 0.5 سم من مستعمرتي الفطرين وكلاً على حده ، حضنت الدوارق في الحاضنة تحت درجة حرارة 25±2 م° لمدة 28يوماً مع مراعاة رج الدوارق يومياً لغرض توزيع النمو الفطري بعدها تم الترشيح باستخدام ورق ترشيح نوع Whatman No.1 بواسطة جهاز التفريغ الهوائي[18].

دراسة تأثير راشح الفطرين في حوريات وبالغات حشرة منّ الخوخ الأخضر

ISSN:1813 – 1662

حضرت أوراق الفجل ووضع عليها حشرات من بمقدار 10 حوريات و 10كاملات كلاً على حدة و بثلاثة مكررات لكل معاملة في أطباق بلاستيكية قطر 9 سم ووضع تحتها قطعة من القطن ورطبت للحصول على رطوبة دائمية وبواقع ثلاثة مكررات أضيف 1 مل وأستخدم الراشح بالتركيز 25 و 50 و 75 و 100 % وبمقدار واحد مل / مكرر أما معاملة المقارنة فتم رشها بماء مقطر معقم فقط وحسبت النسبة المئوية للهلاك بعد 24 و 48 و 72 ساعة من الرش ثم صححت القيم وحولت تحويلاً زاوياً حسب معادلة Orell و Schneider الواردة في [10]التي ذكرت سابقاً

التحليل الكيميائي لأوراق نبات الفجل

تقدير الكلوروفيل في العينة النباتية

أخذ 2 غم من العينة النباتية للنباتات غير المعاملة والمعاملة بالفطرين *B. bassiana* و *C.oxysporum* وأضيف لها 100 مل أسيتون (80 %) ثم وضعت في خلاط كهربائي لمدة ثلاث دقائق بعدها اخذ الراشح وأكمل الحجم إلى 100 مل بإضافة أسيتون (80 %) وبعد أجراء الطرد المركزي أخذ 5 مل من المحلول الرائق وأضيف له أسيتون (80 %) حتى أصبح الراشح 50 مل بعدها وضعت العينة في جهاز الطيف ألموجي (Spectrophotometer) وعلى طول موجي قدره 645 و 665 نانومتر لتقدير كمية الكلوروفيل الكلي محسوبة على أساس ملغم / لتر وحسب المعادلة الآتية :

الكلوروفيل الكلي (ملغم / لتر) = 20.2 × الكثافة الضوئية على طول موجي 645 +8.02 × الكثافة الضوئية على طول موجي 665

حولت القيم إلى ملغم / 100 غم وحسب طريقة Zaehringer (Harborne ، 1984) .

$$\text{ملغم \ 100غم} = \frac{\text{ملغم \ لتر}}{\text{1000 ملم}} \times \frac{\text{100غم}}{\text{وزن العينة بالغرام}}$$

تقدير الكاروتين في العينة النباتية

أخذت عينة نباتية بوزن 2 غم من الأوراق النباتية للنباتات غير المعاملة والمعاملة بالفطرين *B.bassiana* و *C.oxysporum* وأضيف لها 100 مل أسيتون (85 %) ووضع في الخلاط الكهربائي لمدة 3 دقائق بعدها أخذ الراشح وأعيد سحق العينة حتى أصبحت عديمة اللون ثم جمع الراشح وأكمل الحجم إلى 250 مل بواسطة الأسيتون (85 %) واجري له طرد مركزي بعدها وضع الراشح في جهاز الطيف الموجي وقرئت كمية الضوء الممتص على طول موجي قدره 480 نانومتر وقدرت كمية الكاروتين الكلي (ملغم / لتر) وكالاتي:

$$\text{الكاروتين الكلي ملغم / لتر} = \frac{\text{الكثافة الضوئية على طول موجي 480 ×حجم المحلول ×1000}}{\text{100 × 2500}}$$

حولت القيم إلى ملغم / 100 غم وكما في الفقرة السابقة

3-2-6: التحليل الإحصائي

أجريت جميع التجارب وفق التصميم التام العشوائية C.R.D. كتجارب وحيدة العامل وأخرى عاملية حللت النسب المئوية بعد تحويلها زاوياً وتمت مقارنة المتوسطات حسب طريقة أقل فرق معنوي المعدل R.L.S.D. تحت مستوى احتمال 0.01 في التجارب المختبرية و 0.05 في التجارب الحقلية [4]

النتائج والمناقشة Results & Discussion

4-1: تأثير المعلق البوغي للفطرين *B. bassiana* و *C. oxysporum* في حشرة من الخوخ الأخضر مختبرياً

لوحظ من خلال الدراسة ان المعلق البوغي للفطرين *B. bassiana* و *C. oxysporum* قد أعطى معدلات هلاك عالية لحشرة من الخوخ الأخضر والذين اختلفا معنوياً عن معاملة المقارنة ، وقد تفوق الفطر *B. bassiana* على الفطر *C. oxysporum* في معدل الهلاك ، أذ بلغ أعلى معدل للهلاك 39.02 % في التركيز 1×10^8 بوغ / مل مختلفاً معنوياً عن بقية التراكيز التي بلغ معدل الهلاك فيها 33.96 و 25.74 % للتركيزين 1×10^7 و 1×10^6 بوغ / مل على التوالي وحققت علة معدل هلاك بلغت 55.86 ، في حين حقق الفطر *C. oxysporum* نسبة هلاك بلغت 35.68 % في نفس التركيز وبفارق معنوي عن التركيزين 1×10^7 و 1×10^6 بوغ / مل إذ بلغ معدل الهلاك فيهما 30.94 و 23.64 % على التوالي ، كما حققت الفترة الزمنية 14 يوماً أعلى معدل هلاك بلغ 48.38 % (جدول 1) .

وقد توافقت هذه الدراسة مع [5] عندما استخدما الفطر *B. bassiana* ضد حشرة سوسة النخيل الحمراء حيث حقق الفطر نسبة هلاك وصلت الى 40 و 55 % لكل من الذكور والإناث على التوالي باستخدام التركيز 1×10^7 بوغ / مل عند معاملة الحشرة بجراثيم الفطر سطحيا وان نسبة الهلاك زادت عندما حقن الفطر داخل جسم الحشرة حيث بلغت 70 و 85 % للذكور والإناث على التوالي ،كما ان زيادة التركيز أدت إلى زيادة نسبة الهلاك فعند استعمال المعلق البوغي 1×10^8 بوغ / مل بلغت نسبة الهلاك 50 و 55 % للذكور والإناث على التوالي . كما وجد [19] ان الفطر *B.bassiana* قادر على اصابة حشرة المن .

يتميز الفطر *B.bassiana* بمميزات كثيرة منها سرعة إنباته وسرعة تكيفه مع المحيط بالإضافة إلى قدرته على إنتاج الأنزيمات وقابليته على التغلغل داخل جسم الحشرة وان هذه المواصفات تمكنه من إصابة العديد من الحشرات [20]. وربما تعود فعالية الفطر *B. bassiana* ضد الحشرة إلى إنتاجه لبعض الأنزيمات خارج الخلية

وهذا ما بينه [21] في كون الفطر *B. bassiana* ينتج انزيم البروتيز خارج الخلية في الأوساط السائلة إذ اثر الفطر على حشرة *Aphis craccivora* وأعطى نسبة هلاك تراوحت بين 58 – 91 % بعد سبعة أيام من المعاملة .بينما قد تعود فعالية الفطر *C. oxysporum* إلى قابليته على أنتاج إنزيمي الكايتينيز واللايبيز وبذلك فأن الفطر له القابلية على التغلغل داخل جسم الحشرة.

اختبارالقدرة الأمراضية للفطريات المعزولة من حشرة من الخوخ الأخضر

أظهرت النتائج المبينة في الجدول (2) أن الفطر *B.bassiana* حقق نسبة هلاك عاليةلحشرة من الخوخ الأخضر بلغ معدل هلاك الحشرة 54.8 % تلاه الفطر *C.oxysporum* أذ سجل نسبة هلاك بلغت 44.5 % وقد تفوق التركيز 1×10^8 بوغ / مل للفطرين في تأثيره في حوريات الحشرة على بقية التراكيز المستعملة أذ بلغ معدل الهلاك 78.5 و 66.7 % للفطرين *B.bassiana* و *C.oxysporum* ،على التوالي ، أما بالنسبة الى تأثير الفطريات في كلات حشرة من الخوخ الأخضر فكان الفطرين *B.bassiana* و *C.oxysporum* في التركيز 1×10^8 بوغ / مل متفوقان معنوياً على بقية التراكيز المستعملة أذ بلغت النسبة المئوية للهلاك 74 و 66.6 % للفطرين على التوالي بالأضافة الى ذلك فأن التركيز 1×10^8 بوغ / مل لجميع الفطريات تفوق على بقية التراكيز المستخدمة أذ بلغ معدل الهلاك 36.2 و 34.8 % في الحوريات والكاملات على التوالي ، كما أن أمراضية الفطرين *B.bassiana* و *C.oxysporum* للحشرة وعدم تأثيرهما في النبات أدت إلى استخدامهما في التجارب اللاحقة .

جدول (1) تأثير المعلق البوغي للفطرين *B.bassiana* و *C.oxysporum* في حشرة من الخوخ الأخضر

الفطر	تركيز الفطر بوغ / مل	معدل الأعداد الحية قبل الرش	معدل النسبة المئوية للهلاك (يوم) 1	2	3	7	14	متوسط التراكيز	متوسط الفطريات
*B. bassiana**	10×1^6	111	11.9	12.1	18.9	33.3	52.5	25.74	32.90
	10×1^7	140	15.5	18.4	32.8	46	57.1	33.96	
	10×1^8	126	26.7	32.3	33.9	44.2	58	39.02	
متوسطات الفترة الزمنية			18.03	20.93	28.53	41.16	55.86		
C.*oxysporum***	10×1^6	147.3	11.03	14.7	21.9	30.6	40	23.64	30.08
	10×1^7	134	22.4	26.4	30.7	34.7	40.5	30.94	
	10×1^8	105.4	28.1	33.4	37.3	37.4	42.2	35.68	
متوسطات الفترة الزمنية			20.51	24.83	29.96	34.23	40.90		
Control		104.4	2	7.4	10	15.3	17	10.34	
متوسطات الفترات الزمنية			19.27	22.88	29.24	37.69	48.38		

*للفطر ***B. bassiana*** $R.L.S.D._{0.01}$ للتركيز = 2.8 للوقت = 3.7 للتركيز والوقت = 6.4

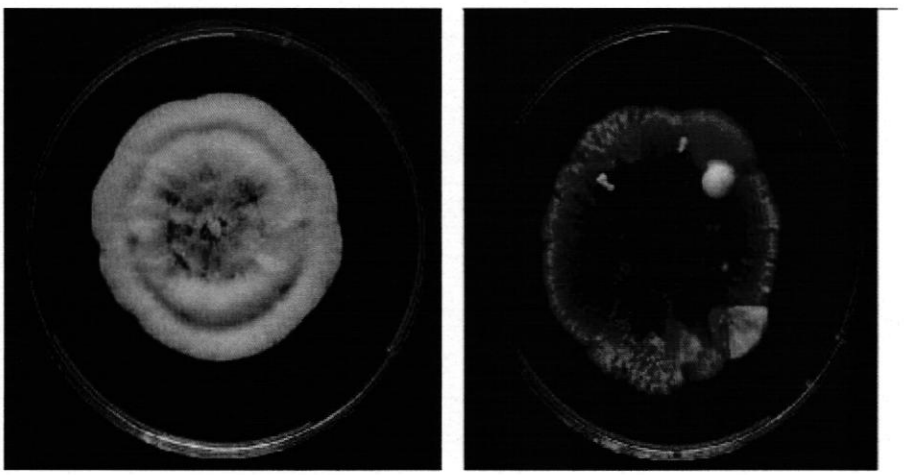
للفطر ***C.oxysporum* $R.L.S.D._{0.01}$ للتركيز = 3.06 للوقت = 3.9 للتركيز والوقت = 6.8

جدول(2) تأثير المعلق البوغي للفطرين *B.bassiana* و *C.oxysporum* في حشرة من الخوخ الأخضر

الفطريات	% معدل الهلاك						المعدل
	10×1^6		10×1^7		10×1^8		
	حوريات	بالغات	حوريات	بالغات	حوريات	بالغات	
Beauveria bassiana	60.6	51.8	71.3	66.6	78.5	74.0	54.8
Cladosporium oxysporum	46.7	55.5	50	48.1	66.7	66.6	44.5
Control	0	10	0	10	0	10	5.0
معدل الحشرات	28.6	24.8	31.3	29.5	36.2	34.8	
معدل التركيز	53.4		66.8		71		

R.L.S.D.0.01 ، للفطريات = 6.4 ، للتراكيز = 3.9 ، لتداخل الطور والتركيز في الحوريات= 10.5 ، لتداخل الطور والتركيز في الكاملات=11.38

لقد اتفقت هذه النتيجة مع عدة دراسات أشارت إلى قدرة أنواع عديدة من الفطريات في إصابة الحشرات وا ٍحداث نسب هلاك عالية لها فقد بين [11] إن الفطر *B.bassiana* كان ذا فعالية عالية في هلاك حشرة من ّ الخوخ الأخضر في المختبر إذ بلغت نسبة الهلاك بطريقة الرش المباشر 37 % . كما اتفقت هذه النتيجة مع[6] الذي أشار إلى تأثير الفطر *B. bassiana* على حشرة من ّ الخوخ الأخضر إذ بلغت نسبة الهلاك 89 % في المختبر . كما أوضح [3] إن الفطر *B. bassiana* له تأثير على حشرة من ّ أوراق الذرة إذ سبب لها نسبة هلاك وصلت 33 % . كما ان زيادة القتل بزيادة الفترة الزمنية ربما تعزى إلى حاجة أبواغ الفطر إلى وقت أطول حتى تتمكن من تحليل جدار جسم الحشرة واستنفاذ مواده وكذلك لموقع أبواغ الفطر دور في الإسراع في اختراق الفطر لجدار جسم الحشرة إذ وجد إن أكثر المناطق التي يمكن اختراقها هي مناطق تمفصل الحلقات كذلك فأن زيادة التركيز يزيد من عدد الأبواغ وبالتالي تقل قدرة الحشرة الدفاعية فتزداد زيادة نسبة القتل مع زيادة التركيز.



Beauveria bassiana ***cladosporium oxysporum***

صورة (2) الفطريات المعزولة من حشرة من الخوخ الأخضر

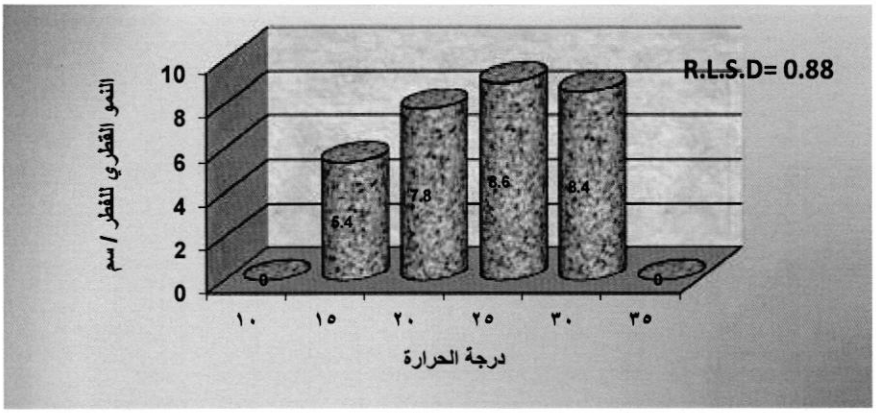
وذلك لتمكن اكبر عدد من الابواغ من السقوط على جسم الحشرة وا ٍحداث الإصابة . أما سبب إصابة الحوريات بشكل أكبر من البالغات فقد يعود إلى إلى أختلاف سمك طبقة الكيوتكل حيث تكون أقل سمكاً في الحوريات منها في الكاملات كما إن الخلايا الدفاعية تكون أكثر في الكاملات منها في الحوريات وبالتالي تزداد مقاومتها [22].

تأثير العوامل البيئية في نمو الفطرين *B.bassiana* و *C.oxysporum*

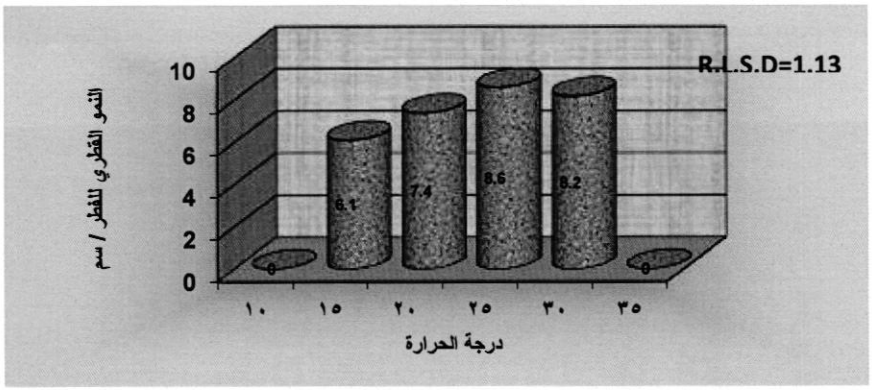
تأثير درجات الحرارة

لوحظ إن أكثر الدرجات الحرارية ملائمة لنمو الفطر *B.bassiana* هي 25 م° إذ بلغ متوسط النمو 8.6 سم مقارنة مع 8.4 و 7.8 و 5.4 سم للدرجات 30 و 20 و15 م° على التوالي وأظهر الفطر عدم قدرته على النمو في درجات الحرارة 10 و35 م° وان الدرجات الحرارية20 و 25 و30 م° لم تختلف فيما بينها معنوياً (شكل ، 1) .وبين الشكل (2) ان الدرجتين الحراريتين 25 و 30 م° هي انسب الدرجات الحرارية الملائمة لنمو الفطر *C.oxysporum* إذ بلغ متوسط النمو 8.6 و8.2 سم للدرجتين على التوالي بينما بلغت 7.4 و 6.1 سم للدرجتين 20 و 15 م°على التو الي ولم يلاحظ أي نمو للفطر في الدرجتين 10 و35 م ° وان المعاملات 25 و30 م° لم تختلف معنويا فيما بينها .

واتفقت هذه النتيجة مع ماتوصل إليه بعض الباحثين فيما يخص الفطر *B.bassiana* فقد أكد بعضهم إن درجة الحرارة المثلى لنمو الفطر *B.bassiana* هي 25 م° [7]،[8]. من جانب أخر وجد [23] ان الدرجة الحرارية المثلى لنمو الفطر *B.bassiana* هي 25 م ° و 30 م.



شكل (1) تأثير درجات الحرارة المختلفة في نمو الفطر *B. bassiana*

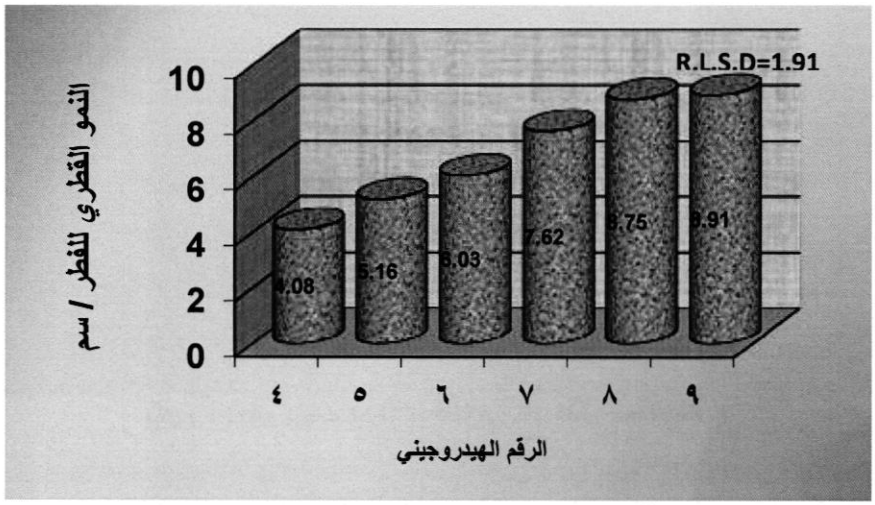


شكل (2) تأثير درجات الحرارة المختلفة في نمو الفطر *C.oxysporum*

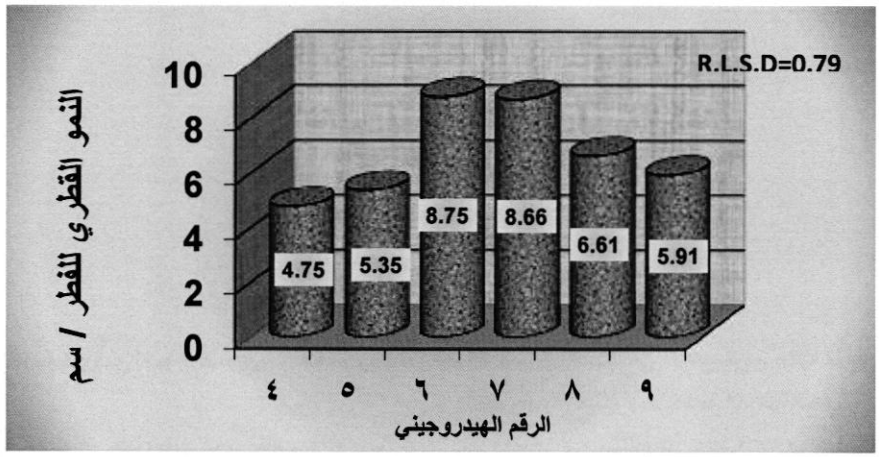
تأثير الرقم الهيدروجيني في نمو الفطرين *B.bassiana* و *C.oxysporum*

يبين الشكل (3) ان أفضل رقم هيدروجيني لنمو الفطر *B.bassiana* في الوسط ألزرعي .P.D.A يقع بين 8 و 9 حيث وصل النمو إلى 8.75 و 8.91 سم على التوالي وبذلك تفوق بفروق عالية المعنوية عن باقي المعاملات اذ لوحظ انخفاض النمو في معاملتي 5 و 4 التي بلغت 5.16 و 4.08 سم على التوالي . بينما أوضحت النتائج المبينة في الشكل (4) ان أفضل رقم هيدروجيني لنمو الفطر *C.oxysporum* هو 6 و 7 إذ وصل معدل قطر المستعمرة إلى 8.75 و 8.66 سم على التوالي بفروق عالية المعنوية عن بقية الأرقام الهيدروجينية المختبرة بعد خمسة ايام من الحضن.

ان هذه النتيجة مختلفة عن دراسة أخرى أجراها الباحثان [8]حول الفطر *B.bassiana* اذ وجدا ان الرقم الهيدروجيني المفضل للفطر *B.bassiana* تراوح بين 5 و 6 ، وربما يعزى ذلك لاختلاف العزلات . بينما أشار [24] إلى ان الرقم الهيدروجيني الملائم لنمو الفطر *B. bassiana* يتراوح بين 6 – 8 حيث لاحظوا ان هذا الرقم كان مناسباً للنمو وتكوين الأبواغ .



شكل (3) تأثير الرقم الهيدروجيني في النمو القطري للفطر *B.bassiana*



شكل (4) تأثير الرقم الهيدروجيني في النمو القطري للفطر *C.oxysporum*

تأثير راشح الفطريات الإحيائية مختبرياً

تأثير راشح الفطر *B.bassiana* في حوريات وكاملات من الخوخ الأخضر

أشارت النتائج الموضحة في الجدولين (3و4) إن لراشح الفطر *B.bassiana* تأثير في حوريات وكاملات من الخوخ الأخضر أذ أعطى التركيز 100% أعلى نسبة هلاك بلغ معدلها 52.17 و54.10 % في الحوريات والكاملات على التوالي ، وان هذا التركيز اختلف معنوياً عن بقية التراكيز في الحوريات التي بلغ معدل الهلاك فيها 44.70 و 38.47 و 18.73 % للتراكيز 75 و50 و25% ،على التوالي كذلك في الكاملات فانه تفوق معنوياً عن بقية التراكيز 75 و 50 و 25 % البالغة نسب الهلاك فيها 33.94 و 30.50 و 21.50 % على التوالي. حققت الفترة الزمنية ثلاثة أيام من المعاملة أعلى معدلات هلاك وصلت 42.10 و44.00 % في الحوريات والكاملات على التوالي وبفارق معنوي عن بقية الفترات الزمنية . وربما تعزى قدرة الراشح على التأثير في الحوريات والكاملات إلى احتوائه على سموم تؤدي إلى قتل أو تحطيم بعض الخلايا حيث تصل إلى داخل جسم الآفة أما عن طريق الثغور التنفسية أو عن طريق الملامسة السطحية لجسم الآفة وان من هذه السموم السم المنتج من قبل الفطر *B.bassaina* المسمى Beauvercin والمعزول من يرقات الذباب المصابة بالفطر *B.bassaina* إذ وجد إن هذا السم يحطم المايتوكوندريا او ينتج بلورات من الأوكزالات والتي يكون لها دور في سمية الراشح [25] كما بين [12]ان الراشح الفطري للفطر *B. bassiana* كان فعالاً في مكافحة حشرة الذبابة البيضاء فقد حقق نسبة هلاك عالية وصلت الى 54.2 و 43.6 % في الحوريات والكاملات على التوالي. كما ذكر [13]ان التركيز 100 % من راشح الفطر المذكور كان له فعالية في قتل يرقات الخابرا *Trogoderma granarium* إذ بلغ معدل نسبة الهلاك باستعمال هذا التركيز 41.10 % متفوقا معنويا عن بقية التراكيز وان معدل الهلاك يقل كلما قل التركيز.

جدول (3) تأثير راشح الفطر *B. bassiana* في حوريات من الخوخ الاخضر في المختبر

% تركيز الراشح	% لهلاك الحوريات (يوم)			متوسطات التراكيز
	1	2	3	
25	6.7	19.9	29.6	18.73
50	23.4	43.9	48.1	38.47
75	33.4	45.2	55.5	44.70
100	33.4	49.1	74	52.17
control	0.0	1.1	3.3	1.47
متوسطات الفترة الزمنية	19.38	31.84	42.10	

$R.L.S.D._{0.01}$ للتركيز = 6.17 للوقت = 5.34 للتداخل = 10.68

جدول (4) تأثير راشح الفطر *B. bassiana* في كاملات من الخوخ الأخضر في المختبر

%تركيز الراشح	% لهلاك الكاملات / يوم			متوسطات التراكيز
	1	2	3	
25	10	20	34.5	20.40
50	10	30	51.5	31.40
75	16.7	30	55.1	34.54
100	40	53.4	68.9	54.10
Control	0.0	0.0	10	3.33
متوسطات الفترة الزمنية	15.34	26.68	44.00	

$R.L.S.D._{0.01}$ للتركيز = 7.27 للوقت = 6.30 للتداخل = 12.59

4-4-2: تأثير راشح الفطر *C. oxysporum* في حوريات وكاملات من الخوخ الأخضر

لوحظ من خلال الدراسة ان لراشح الفطر *C. oxysporum* تأثير في حوريات من الخوخ الأخضر وكان التركيز 100% هو الأكثر تأثيراً إذ بلغ معدل الهلاك فيه 55.50 % محققا فارق معنوي كبير على بقية التراكيز المستخدمة التي وصلت فيها معدلات الهلاك إلى 43.90 و 29.40 و 18.33 % للتراكيز 75 و 50 و 25 % على التوالي كما وجد ان الفترة الزمنية ثلاثة أيام كانت أكثر تأثيرا من غيرها إذ بلغ معدل الهلاك فيها 38.38 % وقد اختلفت معنوياً عن بقية الفترات الزمنية علماً إن الفترات الزمنية الثلاث قد اختلفت فيما بينها معنوياً (جدول ،5) . كما أكدت النتائج المبينة في الجدول (6) تفوق التركيز 100% من بقيه التركيز حيث بلغت نسبه الهلاك فيه 54.10 محققا فارق معنوي على بقية لتركيز المستخدمة حيث كانت معدلات الهلاك فيها 34.54 و31.40و 21.40 للتركيز 25,50,75%على التوالي كما وجد ان الفترة الزمنيه ثلاثه أيام كانت كانت أكثر تأثيرا.

ربما يعود تأثير هذه الفطريات في الحشرة إلى إفرازها للسموم التي تؤدي إلى هلاك الحشرة فقد ذكر [26]إن هذه الفطريات تتفاوت في إفرازها للسموم الفطرية (Mycotoxins) التي قد تؤثر على الفعاليات الحيوية في أجسام الكائنات الحية فقد تعمل على تعطيل عمل بعض الأنسجة أو قد تؤثر على نمو وتطور الحشرة.

جدول (5) تأثير راشح الفطر *C. oxysporum* في حوريات من الخوخ الاخضر في المختبر

%تركيز الراشح	% لهلاك الحوريات (يوم)			متوسطات التراكيز
	1	2	3	
25	6.7	18.7	29.6	18.33
50	20	31.2	37	29.40
75	33.4	42.9	55.4	43.90
100	43.3	56.6	66.6	55.50
Control	0.0	0.0	3.3	1.10
متوسطات الفترة الزمنية	20.66	24.88	36.38	

$R.L.S.D._{0.01}$ للتركيز = 9.26 لوقت = 8.02 للتداخل = 16.04

جدول (6) تأثير راشح الفطر *C. oxysporum* في كاملات من الخوخ الاخضر في المختبر

%تركيز الراشح	% لهلاك الكاملات (يوم)			متوسطات التراكيز
	1	2	3	
25	3.3	13.5	24.1	13.63
50	16.7	23.7	31	23.80
75	20	36	48.2	34.73
100	36.7	49.6	65.5	50.60
Control	0.0	0.0	10	3.33
متوسطات الفترة الزمنية	15.34	24.56	35.76	

$R.L.S.D._{0.01}$ للتركيز = 12.16 للوقت = 10.53 للتداخل الثنائي = 21.06

5-4 : التحليل الكيميائي لأوراق نبات الفجل

أشارت النتائج المبينة في الجدول (6) أن اعلى نسبة للكلوروفيل كانت في معاملة المقارنة إذ بلغت 2.95 ملغم / 100 غم والتي لم تختلف معنوياً عن بقية المعاملات أما أقل كمية للكلوروفيل فقد كانت في معاملة الفطر ***C. oxysporum*** إذ بلغت 1.48 ملغم / 100 غم ، أما بالنسبة للكاروتين فقد تفوقت معاملة السيطرة إذ حققت 0.77 ملغم / 100 غم التي لم تختلف معنو+يا عن باقي المعاملات أما أقل معاملة فكانت في معاملة الفطر ***C. oxysporum*** أذ بلغت **0.66**ملغم / 100 غم . أن أنخفاض نسبة الكلوروفيل والكاروتين في معاملة الفطر ***C. oxysporum*** إلى وجود الصبغات في الأوراق وبالتالي تقلل هذه الصبغات في النبات النسبةأذ أشار [14]الى أن بعض والكاروتين قد يعود إلى اختلاف السموم تخفض من نسبة الصبغات الموجودة في النبات . كما أن أختلاف نسب الكلوروفيل شدة الإصابة للنباتات إلن حشرة من الخوخ الخضر من الحشرات الماصة للعصارة النباتية والتي تحتوي على هذه الصبغات مما يقلل من كمية هذه الصبغات .

جدول (7) تقدير الكلوروفيل والكاروتين في أوراق نبات الفجل ملغم / 100 غم

المعاملات	الكلوروفيل الكلي (ملغم / 100 غم)	الكاروتين الكلي (ملغم / 100 غم)
الفطر *B. bassiana*	2.05	0.71
الفطر *C. oxysporum*	1.48	0.66
Control	2.95	0.77

$R.L.S.D._{0.01}$ للكلوروفيل = 0.20 $R.L.S.D._{0.01}$ للكاروتين = 0.02

المصادر

1. الزميتى، محمد السعيد صالح. (1997). تطبيقات المكافحة المتكاملة للآفات الزراعية. دار الفجر للنشر والتوزيع ، الجيزة، مصر،456 صفحه.

2. ابوعبيد، ابتهال ؛مصطفى ، توفيق؛ المؤمنى،احمد.(2000). مكافحة من الدراق *Myzus persicae* باستخدام *Verticillium lecanii* . النشرة الإخبارية لوقاية النبات في البلدان العربية والشرق الأدنى . (31):6-7 .

3. القدسي ، عبد القوي عبد الجليل احمد (2003) حساسية أصناف من الذرة البيضاء والصفراء للإصابة بحشرة من أوراق الذرة Fitch *Rapalosiphum maidis* مع الإشارة إلى بعض طرق مكافحتها . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة البصرة . 62 صفحة .

4. الراوي ، خاشع محمود و عبد العزيز خلف الله (1980) تصميم وتحليل التجارب الزراعية . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة الموصل . 488 صفحة .

5. الجبر ، احمد بن محمد و محمد سالم شعوير (1999) . دراسة استكشافية لفاعلية بعض الفطريات الممرضة للحشرات على أطوار سوسة النخيل الحمراء المختلفة تحت ظروف المعمل . كلية العلوم الزراعية والأغذية . جامعة الملك فيصل . تقرير فني .43 صفحة .

6. اليوسف ، عقيل عدنان (2008) كفاءة بعض الفطريات في المقاومة الإيائية لحشرة من الباقلاء الأسود *Aphis fabae* Scopolli. (Homoptera: Aphididae) على نبات الباقلاء *Vicia faba*. مجلة ميسان للدراسات الأكاديمية . 13 : 69 – 77.

7. الجبوري ، إبراهيم جدوع ؛ إسماعيل احمد الزوبعي وسنداب سامي الدهوي (2002) تقويم فاعلية عزلتين من الفطر *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. في مكافحة بعض الآفات الحشرية والحلم واختبار كفاءة بعض أوساط الإكثار . مجلة جامعة عدن للعلوم الطبيعية والتطبيقية 1: 50 . 56 .

8. متيش ، بهية دومانجي و فاطمة الزهراء بساعد (2007) تأثير بعض العوامل الفيزيوكيمياوية والتغذوية في النمو المشيجي وا نتاج

الأبواغ للفطر *Beauveria bassiana* مجلة وقاية النبات العربية مجلد 25 عدد 1

9. تويج، نبيل سليم سعيد.(2002). أنتاج مبيد حيوي من لقاح الفطر *Beauveria bassiana* لمكافحة من الخوخ الأخضر *Myzus persicae*.رسالة ماجستير مقدمة إلى كلية العلوم – جامعة الكوفة 176صفحة

10. شعبان ، عواد ونزار مصطفى الملاح (1993) المبيدات . دار الكتب للطباعة والنشر . جامعة مهدي ، حياة محمد رضا (2002) المكافحة الكيميائية والأحيائية للحلم ذو البقعتين *Tetranychus urticae* (Tetranychidae : Acarina) على محصول الطماطة في محافظة البصرة . رسالة ماجستير . كلية الزراعة جامعة البصرة . 65 صفحة.

11. محمد أمين ، مهند خلف (2007) عزل وتشخيص الفطريات من ترب مناطق مختلفة في محافظة البصرة واختبار أمراضيتها على حشرتي الذبابة البيضاء *Bemisia tabaci* Genn. من الباقلاء الأسود *Aphis fabae* Scopoli . أطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة البصرة . 157 صفحة .

12. فياض ، محمد عامر ؛ مثنى عكيدي المعاضيدي و مهند عبد الرضا خلف (2008) تقييم حساسية أصناف مختلفة من الطماطة للإصابة بمرض تجعد والتفاف أوراق الطماطة الأصفر

13. الأمارة ، محمد صبري جبر (2009) دراسة تأثير بعض عوامل المكافحة الحيوية والكيميائية في حشرة خنفساء الحبوب الشعرية الخابرا *Trogoderma gramarium* . رسالة ماجستير . كلية الزراعة . جامعة البصرة . 110 صفحة .

14. ديوان ، مجيد متعب وعلي حسين كاظم (1984) أمراض النبات دار الحكمة للطباعة والنشر. 344 صفحة .

15. Domsch , K.H. ; Gams , W. and Anderson , T.H. (1980) Compendium of soil fungi .V.1. Academic Press . London . 859 pp.

16. -Ellis, M.B. (1971) Dematiaceous hyphomycetes . Common . Mycol . Inst. England . 608 pp.

17. Pitt, J. I. (1979) The genus Penicillium and its teleomorphic states Eupenicillium and Talaromyces . Academic Press . London . 634pp.

18. Goettel, M.S.; Inglis, G.D.; Wraight, S.P. (2000) . Fungi "In field manual of Techniques in Invertebrate pathology Application and Evaluation of pathogens for control of Insects and other Invertebrate pests" (L.A. Lacey & H.K. Kaya, Eds) pp.255- 282Kluwer. Academic Dordrecht.

19. Huxham, I.M. and Lackie, A.M. (1988) Behavior invitro of separated fractions of heamocytes of the locust Schisticerca gregaria .Cell Tissue Res . 251 : 677 – 684.

20. Feng, M.G. ; Poprawiski , T.J. and Khatchatourians , G.G. (1994) Prodection , formulation and application of the entomopathogenic fungus Beauveria bassiana for the insect control : Current status . Biocont. Technol . 4 : 30 – 34.

21. Ito, E.T. ; Geni varea , P ; Dalva, T. M.; Maria, H. P. P. and Pedro, M.O.J.(2007) Production of extracellular protease by Brazilian strain of Beauveria bassiana reactivated on coffee berry borer , Hypothenemus hampei . Brazilian Arch. of Biolo. Tech. 21: pp.217 – 233.

22. Boucis , D. G. and Pandland , J. C. (1991) Attachment of mycopathogens to cuticle . In: The fungal spore and disease Initiation in plants and animals (Eds. G. T. Cole and H. C. Hoch) . Plenum Press, New York . pp.101- 127.

23. Bugeml, D.M. ; Nguya, K.M. ; Markus, K. and Hamadi , I.B. (2009) Effect of temperature on virulence of Beauveria bassiana and Metarhizum anisopliae isolates to Tetranychus evansi . Diseases of Mites and Ticks. 4: 275-285.

24. Karthikeyan, A. ; Shanthi , V. and Nagasathya , A. (2008) Effect of different media and pH on the growth of Beauveria bassiana and its parasitism on leaf cating caterpillars .J .Agri..Biol. Sci. 2:117- 119.

25. Dirion ,G. B. and Jacquelyn G. P.(1998) Principles of insect pathology; Institute of Food and Agricultural Sciences of Florida .346pp.

26. Lablor, J.H.; Chinnici, J.P. and Liewellyn, G.C. (1976) Effect of fungal metabolite, aflatoxin B1 on larval viability and gross morphology in Drosophila melanogaster. J. Microbiol. 17: 210-215.

(Aphididae:Homoptera) use Fungi *Beauveria bassiana, Cladosporium oxysporum*

Safaa M. yaseen
Dep: life Science, Collegeof Science, Misan University, Misan, Iraq

Abstract
The main aim of the study is to use Fungi to strive ***myzus persica(sulzer).*** The study showed that the following fungi,*Beauveria bassiana, Cladosporium oxysporum* , were isolated. The pathogenicity test showed that *B. bassiana* and *C. oxysporum* were entomopathogenic fungi compared with the other isolated fungi , when used the concentration of 1×10^8 spores / ml which gave percentage of death 39.2 and 35.68% respectively . . The suitable temperature for *B. bassiana* growth on P.D.A. was 25 C° and 25 and 30 C° for the *C. oxysporum* growth while the suitable pH for the growth of *B. bassiana* was 8 and 9 , so *C. oxysporum* gave best growth at pH 6 and 7. The mortality of nymphs and adults of aphid in 100% concentration of exudates of *B. bassiana* were 52.17 and 54.10 % respectively while in *C. oxysporum* exudates were 55.5 and 50.6 % respectively. the percentage of the death were 68.2 and 71.83 % respectively. The results also showed that chlorophyll and carotene were significantly differed from the control treatment.